



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**TÍTULO: IMPLICACIÓN DE LOS CANALES DE  
POTASIO ACTIVADOS POR CALCIO EN LA  
PATOLOGÍA CARDIOVASCULAR**

**Autor:** Silvia Andrés García

**Tutor:** Dra. Belén Climent Flórez

**Convocatoria:** Junio 2017

## **1. RESUMEN**

Los canales de potasio activados por calcio ( $K_{Ca}$ ) regulan el potencial de membrana y el tono vascular en los vasos sanguíneos. Estos canales pueden ser de diversos tipos en función de su conductancia (media, baja, alta) y, dependiendo de su tipo, encontrarse en diferentes lugares dentro del organismo. En el sistema cardiovascular se van a encontrar en el endotelio y músculo liso vascular (MLV). En el MLV se hayen los canales  $BK_{Ca}$  que van a contribuir a la hiperpolarización de las células del MLV, cerrando los canales de calcio voltaje-dependientes y, por ello, generando vasodilatación. En el endotelio, los canales  $SK_{Ca}$  e  $IK_{Ca}$  se activan mediante corrientes de calcio y producen una corriente de salida de potasio que difunde por las uniones gap mioendoteliales hasta el MLV, de manera que cierra los canales de calcio dependientes de voltaje de este territorio produciendo hiperpolarización y finalmente relajación de la célula del MLV.

Estos canales están implicados en diversas patologías del sistema cardiovascular de diferente manera, ya que en la obesidad pueden perder su actividad lo que produce un aumento de la vasoconstricción al estar estos canales implicados en la vasodilatación y, en cambio, en la hipertensión los canales pueden aparecer aumentados en número y verse incrementada su actividad a modo de mecanismo compensador, para contrarrestar los efectos del aumento de la presión arterial para la protección de los vasos sanguíneos.

Debido al importante papel en el control del tono vascular y, por tanto, en la presión arterial que llevan a cabo estos canales y, debido a que se encuentran alterados en algunas patologías, podrían suponer una buena diana terapéutica para el desarrollo de compuestos útiles en el tratamiento de diferentes enfermedades cardiovasculares. Compuestos que promuevan el aumento de la actividad de estos canales podrían contrarrestar su inactivación o suponer un mecanismo compensador para mejorar la progresión de la enfermedad, así como sus inhibidores también serían útiles en otras situaciones que afectaran al sistema cardiovascular.

## **2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES**

### **2.1.El endotelio**

El endotelio es una monocapa de células endoteliales que constituye el revestimiento interior de los vasos sanguíneos y del sistema linfático y se encuentra en contacto directo con la sangre, la linfa y las células circulantes (Félétou, 2011). Se sitúa entre la sangre circulante y las tunicas media y adventicia de los vasos sanguíneos y, estas células, responden a los cambios en el flujo, el estiramiento, el estímulo de las diversas sustancias circulantes y los mediadores inflamatorios, además de secretar reguladores del crecimiento y sustancias vasoactivas, entre las que se encuentran prostaglandinas, tromboxanos, óxido nítrico y endotelinas (Ganong, 2016).

Las células endoteliales controlan el tono vascular y el flujo sanguíneo mediante la síntesis y liberación de factores relajantes y de contracción (Félétou, 2011). Entre las **sustancias vasodilatadoras** se encuentran:

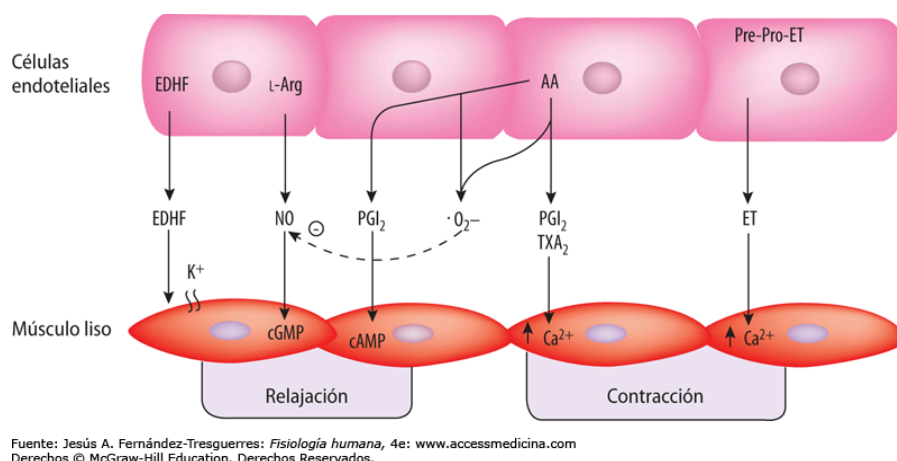
- La **prostaciclina** se genera en las células endoteliales a partir del ácido araquidónico, mediante la vía de la ciclooxigenasa, inhibe la agregación plaquetaria y fomenta la vasodilatación (Ganong, 2016) a través de un receptor que se encuentra en el MLV, llamado IP, cuya activación produce el aumento de la concentración intracelular de AMPc (Moncada et al., 1976), lo que activa canales de  $K^+$  rectificadores retrasados y canales de  $K^+$  sensibles a ATP (Hecker, 2000), generando relajación de las fibras musculares.
- El **óxido nítrico (NO)**, es un gas con una potente acción vasodilatadora que inicialmente fue llamado factor de relajación derivado de endotelio. Se sintetiza a través de la arginina mediante la actuación de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) (Ganong, 2016). Su síntesis está sujeta a diferentes estímulos, como la acetilcolina, que mediante su unión al receptor muscarínico de tipo  $M_3$  promueve la formación de inositol trifosfato ( $IP_3$ ), por el que se libera  $Ca^{2+}$  desde el retículo sarcoplásmico, aumentando la concentración de calcio en el citosol. Esto produce la formación del complejo  $Ca^{2+}$ -calmodulina que estimula la NOS y, por tanto, la formación de NO (Berridge, 2008). Esta sustancia difunde a las células del músculo liso, donde activa la guanilil ciclase, generando 3,5-monofosfato de guanosina cíclico (cGMP), que media la relajación del MLV (Ganong, 2016).

- **El Factor hiperpolarizante derivado de endotelio (EDHF)** fue descubierto gracias a un estudio en el que se comprobó que al bloquear la COX y la NOS había una sustancia que seguía produciendo relajación del MLV. Actualmente no se conoce su identidad y se han postulado diferentes sustancias difusibles que causan hiperpolarización del MLV. Entre estos factores se encuentran el ácido epoxieicosatrienoico, productos de la lipooxigenasa, el NO, el peróxido de hidrógeno y los canales  $K_{Ca}$  (Grgic *et al.*, 2009) cuya apertura causa la hiperpolarización del MLV, generando la respuesta vasodilatadora de tipo EDH. La apertura de los canales  $K_{Ca}$  endoteliales provoca la hiperpolarización del endotelio y, mediante un acoplamiento directo entre el endotelio y el MLV, esta hiperpolarización pasa a través de las uniones gap mioendoteliales (Sandow *et al.*, 2002) al MLV subyacente. Esto produce la activación de los canales  $K_{Ca}$  localizados en el MLV, lo que genera la salida de  $K^+$  de la célula del MLV, produciendo hiperpolarización y el cierre de los canales de  $Ca^{2+}$  dependientes de voltaje, lo que reduce la concentración de calcio para finalmente producir vasodilatación (Félétou, 2009).

Finalmente, las tres sustancias van a producir la relajación del MLV mediante la reducción de la concentración de  $Ca^{2+}$  en las células de este tejido, ya que producen la terminación de la entrada de  $Ca^{2+}$  extracelular y de la liberación de  $Ca^{2+}$  desde el retículo sarcoplásmico generando vasodilatación (Del Valle *et al.*, 2003). Las células musculares lisas se contraen mediante un sistema de actina-miosina y, a diferencia del músculo estriado, la regulación de la contracción por  $Ca^{2+}$  se debe sobre todo a reacciones de fosforilación y desfosforilación (Ganong, 2016).

Por otra parte, entre las **sustancias vasoconstrictoras** tenemos:

- La **endotelina-1** es producida por las células endoteliales y es uno de los vasoconstrictores más potentes que se conocen, ya que actúa como regulador paracrino del tono vascular. Se secreta en forma de prohormona que debe romperse para generar la endotelina-1 (Ganong, 2016), que aparece aumentado cuando existe una lesión en el endotelio (Guyton & Hall, 2016).
- El **tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>)**, al igual que la prostaciclina, se forma a partir del ácido araquidónico, a través de la vía de la ciclooxigenasa en diferentes lugares como son el músculo, el endotelio y las plaquetas. Este compuesto favorece la agregación plaquetaria localizada y la vasoconstricción (Ganong, 2016).



**Figura 1: Efecto de los factores derivados de endotelio en el MLV.** Fuente: Fernández-Tresguerres J.A. *Fisiología humana*, 4e.

Un endotelio sano es un órgano paracrino, autocrino y endocrino que juega un papel principal en la homeostasis secretando activamente varias sustancias trópicas y vasoactivas que afectan la vasomoción, la proliferación celular y el crecimiento del endotelio y del MLV, las interacciones entre el endotelio y los leucocitos, la adhesión plaquetaria, la coagulación, la inflamación y la permeabilidad (Vanhoutte *et al.*, 2009), permitiendo así la adaptación del endotelio a numerosos estímulos, entre los que se incluyen el estrés mecánico, metabólico y oxidativo, la inflamación y la hipoxia.

Debido a la situación anatómica del endotelio, este es el primer tejido con el que se encuentran las moléculas liberadas en el sistema vascular, por lo que se encuentra expuesto en mayor medida a las alteraciones en la concentración y/o composición de distintos factores circulantes que pueden modificar la función endotelial fisiológica. Un individuo puede presentar distintos factores de riesgo que le lleven a la disfunción endotelial, como son la obesidad, la hipercolesterolemia o la resistencia a la insulina. La disfunción endotelial representa un fenotipo endotelial mal adaptado que se caracteriza por una vasodilatación, angiogénesis y función barrera dañadas, así como una elevación de la expresión de factores proinflamatorios y protrombóticos secundaria a la pérdida de actividad del NO. Además de esta pérdida de actividad del NO, se cree que la disfunción endotelial podría también estar relacionada en algunas patologías con alteraciones en el sistema EDHF (Félétou, 2011).

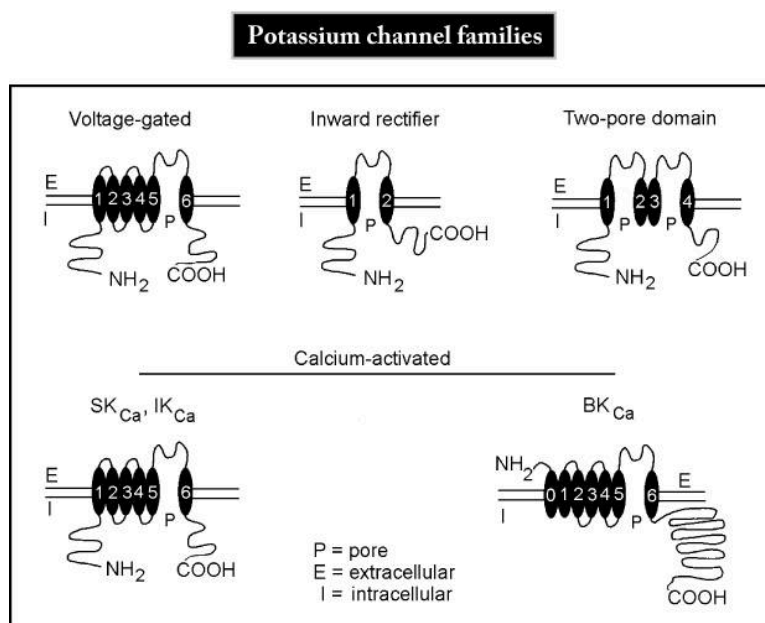
## 2.2. Canales de potasio

Los canales de potasio se encuentran regulando el potencial de membrana y el tono vascular, lo que condiciona el flujo sanguíneo (Félétou, 2011). En el MLV su apertura está producida por los factores relajantes derivados de endotelio y la apertura de estos canales produce la hiperpolarización de las células del MLV, cerrando los canales de calcio voltaje dependientes, por lo que se produce la finalización de la entrada de los iones calcio y su salida del retículo sarcoplásmico, generando un descenso en la concentración de calcio e induciendo vasodilatación (Del Valle *et al.*, 2003); mientras que en el endotelio estos canales generan la respuesta vasodilatadora tipo EDH.

Hay diversos tipos de canales de potasio expresados en las células endoteliales y en el MLV, y su apertura produce hiperpolarización.

En la pared vascular se han identificado cinco familias de canales de potasio:

- Canales de K activados por calcio ( $K_{Ca}$ )
- Canales de K rectificadores internos ( $K_{IR}$ )
- Canales de K sensibles a ATP ( $K_{ATP}$ )
- Canales de K dependientes de voltaje ( $K_v$ )
- Canales de K de dominio poro en tándem ( $K_{2P}$ )



**Figura 2: Familias de canales de potasio.** Fuente: *The Endothelium: Part 1: Multiple Functions of the Endothelial Cells.*

Centrándonos en los canales de K activados por calcio ( $K_{Ca}$ ), éstos están formados por cuatro subunidades alfa, cada una de ellas formada por 6 ó 7 dominios de membrana hallándose el poro entre los dominios de membrana S5 y S6 (Neylon *et al.*, 1999).

Existen diferentes clases de canales de potasio activados por calcio, dentro de los cuales diferenciamos tres tipos principales: alta (**BK<sub>Ca</sub>**), media (**IK<sub>Ca</sub>**) y baja conductancia (**SK<sub>Ca</sub>**).

### **Canales SK<sub>Ca</sub> y IK<sub>Ca</sub>:**

Este grupo comprende los tipos  $K_{Ca}$  2.1,  $K_{Ca}$  2.2 y  $K_{Ca}$  2.3, de baja conductancia, mientras que el grupo de media conductancia corresponde a los canales  $K_{Ca}$  3.1 (Félétou, 2009).

En cuanto a su estructura la familia de canales  $K_{Ca}$  2/3, en el dominio de membrana S4 contiene menos dominios cargados que los canales de K dependientes de voltaje, lo que produce una falta de dependencia de voltaje para esta familia, que hace posible que éstos se abran cuando el potencial de membrana es negativo y puedan mantener la hiperpolarización y llegar a valores cercanos al potencial de reposo de -89mV (Wulff & Köhler, 2013). Esta familia de canales se liga al  $Ca^{2+}$  mediante dominio sensible a  $Ca^{2+}$  unido a calmodulina, de manera que su unión al calcio produce la apertura del canal (Wulff *et al.*, 2007).

Con respecto a su distribución tisular, los canales  $K_{Ca}$  2.3 y  $K_{Ca}$  3.1 tienen una localización muy diferente y variada en todo el organismo, aunque en el endotelio vascular se expresan ambos tipos (Bychkov *et al.*, 2002) y en el MLV los  $K_{Ca}$  3.1. Aparentemente participan en diferentes vías de señalización y se encuentran en diferentes lugares dentro del tejido.

Los canales de tipo  $K_{Ca}$  3.1 se encuentran generalmente en las proyecciones de la célula endotelial atravesando la membrana interna elástica y son activados por calcio liberado del retículo endoplasmático en respuesta a la estimulación por los receptores muscarínicos de acetilcolina así como por otros receptores (Climent *et al.*, 2014). En cambio, el tipo  $K_{Ca}$  2.3 se encuentra en las uniones interendoteliales y en las caveolas junto con los canales TRP (Receptores de potencial transitorio) y con los canales  $K_{IR}$  (Saliez *et al.*, 2008). En este lugar pueden sentir los incrementos de calcio producidos por la deformación mecánica que producen las fuerzas de rozamiento de la sangre sobre la superficie del endotelio vascular (“shear stress”) (Brahler *et al.*, 2009), amplificando la hiperpolarización derivada de endotelio aliviando el bloqueo endógeno de los canales de K rectificadores internos (Weston *et al.*, 2010) impidiendo, por tanto, la repolarización de la célula.

$K_{Ca}$  3.1 y 2.3 forman parte de diferentes vías de señalización respondiendo a diferentes estímulos, la activación de cada canal inicia la hiperpolarización y genera la respuesta

vasodilatadora mediada por hiperpolarización (EDH), en la que la hiperpolarización endotelial se extiende a la capa de células del MLV subyacente, cierra los canales de calcio dependientes de voltaje y produce finalmente relajación y vasodilatación (Kohler et al., 2010). Además de participar en la respuesta vasodilatadora tipo EDH, la activación de los SK<sub>Ca</sub> e IK<sub>Ca</sub> endoteliales contribuyen también a la generación de NO. Esto se produce debido a que estos canales producen hiperpolarización de la célula endotelial, lo que induce una entrada de calcio a través de canales de Ca<sup>2+</sup> voltaje-independientes. Este ión se une a la NOS a través de la calmodulina, lo que produce su activación y, por tanto, induce la síntesis de NO a través de esta enzima (Stankevicius *et al.*, 2006; Sheng and Braun, 2007).

### **Canales BK<sub>Ca</sub>:**

Los canales K<sub>Ca</sub> de larga conductancia son conocidos como BK<sub>Ca</sub> o Maxi-K y engloba el grupo de canales K<sub>Ca</sub> 1.1, K<sub>Ca</sub> 4.1, K<sub>Ca</sub> 4.2, K<sub>Ca</sub> 5.1. que intervienen en una gran cantidad de funciones celulares que van desde la excitación neuronal a la regulación del tono del músculo liso uterino, gastrointestinal, vascular y urinario (Large *et al.*, 2015). La activación de este canal es dependiente de Ca<sup>2+</sup> y de voltaje (Sandow *et al.*, 2009). Su sensibilidad al calcio no está relacionada con su unión a la calmodulina ya que éstos se unen al calcio de manera directa a través de la subunidad β, a diferencia de los SK<sub>Ca</sub> e IK<sub>Ca</sub> (Heike & Köhler, 2013). La expresión del canal BK<sub>Ca</sub> está principalmente restringida a las MLV, sin embargo también se han descrito la presencia de estos canales en el endotelio de la arteria coronaria y renal del cerdo así como en células endoteliales de diferentes lechos vasculares en algunos estados patológicos.

Atendiendo a su estructura, el canal BK<sub>Ca</sub> está formado por dos subunidades diferentes: una subunidad α formadora de poro y una subunidad β auxiliar, que puede afectar a la cinética y a las propiedades farmacológicas del canal ya que es la que regula la sensibilidad al calcio del canal (Sandow *et al.*, 2009). Se encuentran en grupos de 20-100 unidades y son activados por corrientes de calcio que se producen debido a la salida de este ión del retículo sarcoplásmico por la apertura de un grupo de receptores de rianodina (RyRs) (Félétou, 2009). Esta salida de calcio se conoce como “Ca<sup>2+</sup> sparks”, e induce la activación de los canales BK<sub>Ca</sub>, permitiendo la salida de K<sup>+</sup>, generando lo que se conoce con el nombre de corrientes espontáneas de salida transitorias conocidas como “spontaneous transient outward currents” (STOCs) (Benham and Bolton, 1986). Al generarse estas corrientes de potasio, se produce la hiperpolarización de la célula del MLV, lo que induce vasodilatación. Los STOCs proporcionan un mecanismo para la relajación del MLV, sirviendo de freno frente a los incrementos de contracción (Félétou, 2009) ya que actúan llevando el potencial de membrana hacia valores negativos y cerrando los canales



de calcio tipo L que suministran el calcio para iniciar la contracción (ZhuGe *et al.*, 2002), lo que impide la contracción del MLV.

Los diferentes factores vasoactivos van a llevar a cabo su función vasodilatadora mediante la activación de estos canales.

#### **Factores relajantes derivados del endotelio:**

- **Óxido nítrico (NO):** Activa al canal BK<sub>Ca</sub> mediante una fosforilación dependiente de una proteína quinasa G o de manera directa sin la necesidad de que actúe en ella el cGMP. Además, previene la formación de un inhibidor endógeno de estos canales, el ácido 20-Hidroxicicosatetranoico (20-HETE).
- **Ácidos epoxieicosatrienoicos (EETs):** Promueve la fosforilación y activación de la subunidad Slo1 $\alpha$  activando por tanto al canal. También genera CO, y éste activa el canal TRP provocando la entrada de calcio, que a su vez activa al canal BK<sub>Ca</sub>, induciendo STOCs.
- **Peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):** Relacionado con las relajaciones dependientes de endotelio en respuesta a los agonistas o al flujo y su activación compensa la disminución de la producción de NO. Es capaz de activar BK<sub>Ca</sub> directamente o a través de la estimulación por parte de la guanilil ciclasa.

#### **Factores contráctiles derivados del endotelio:**

Dentro de este grupo se encuentran diversos factores que inhiben a los canales BK<sub>Ca</sub> como son la **endotelina 1**, la activación del receptor de tromboxanos/endoperóxidos, algunas **especies reactivas de oxígeno (ROS) como el peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>)** y el **Ácido 20-Hidroxicicosatetranoico (20-HETE)**. Este último, además de inhibir los canales BK<sub>Ca</sub>, activa los canales de calcio dependientes de voltaje, por lo que despolariza y contrae el MLV. Además, la **sobreexpresión del citocromo P450 4A** contribuye a la contracción del MLV de manera indirecta, ya que aumenta la producción de 20-HETE y contribuye a la aparición de hipertensión y a la disfunción endotelial (Félétou, 2009).

### **2.3. Disfunción endotelial**

La disfunción endotelial es un estado patológico que se caracteriza por una reducción de la vasodilatación dependiente de endotelio mediada por agonistas selectivos (bradiquinina o acetilcolina) o por el aumento del flujo sanguíneo (Schachinger *et al.*, 2000). Asimismo, en la

disfunción endotelial, se produce trombosis, aterotrombosis, trombosis arterial, trombosis venosa, coagulación intravascular y la microangiopatía trombótica (Félétou, 2011).

La disfunción endotelial, con su característica disminución de la vasodilatación dependiente de endotelio, es un factor de riesgo cardiovascular clásico y es un evento inicial común en patologías como la hipertensión, la hipercolesterolemia, la diabetes, el tabaco, la edad y la aterosclerosis e inflamación (Climent *et al.*, 2014). Entre los aspectos que se producen tenemos un descenso en la biodisponibilidad del NO, alteraciones en las respuestas mediadas por EDHF y/o el aumento de la producción de factores vasoconstrictores derivados de endotelio (Félétou, 2009).

Los canales de potasio  $SK_{Ca}$  e  $IK_{Ca}$  están involucrados en la respuesta vasodilatadora tipo EDH, por lo que la activación de los canales  $K_{Ca}$  endoteliales podría prevenir la aparición de la disfunción endotelial, así como la activación de los canales  $BK_{Ca}$ , ya que al encontrarse en el MLV pueden compensar la pérdida de funciones del endotelio y de biodisponibilidad de NO (Stankevicius *et al.*, 2008), impidiendo una mayor contracción de las células del MLV. Los activadores directos de los canales  $SK_{Ca}$  e  $IK_{Ca}$  o compuestos que regulen su actividad o su expresión pueden ser de interés terapéutico, por el contrario, los bloqueantes de los canales  $IK_{Ca}$  pueden prevenir la reestenosis, ya que la actividad de este canal se encuentra aumentada en las células en crecimiento del MLV (Neylon *et al.*, 1999) y los bloqueantes de  $BK_{Ca}$  pueden prevenir la hipotensión dependiente de la sepsis (Zhao *et al.*, 2007).

### **3. OBJETIVOS**

El objetivo de este trabajo es hacer una revisión bibliográfica sobre el estado actual del papel de los canales de potasio activados por calcio en las diferentes patologías cardiovasculares, en concreto, la obesidad, la diabetes, la hipertensión y la hipercolesterolemia, así como estudiar las posibilidades que nos ofrecen estos canales en el tratamiento de dichas patologías.

### **4. METODOLOGÍA**

Se ha realizado una revisión bibliográfica descriptiva en bases de datos como Pubmed. Además, se utilizó como consulta los libros Berne y Levy 6ª edición, Ganong 25ª edición y Guyton & Hall 13ª edición.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Obesidad

La obesidad es un desorden metabólico y un factor de riesgo para el desarrollo de resistencia a la insulina, el síndrome metabólico y la diabetes de tipo 2, caracterizado por la disfunción endotelial, que disminuye la biodisponibilidad de NO, siendo esto probablemente provocado por el aumento en la formación de ROS (Climent *et al.*, 2014).

La biodisponibilidad de NO comprometida unida al estrés oxidativo es una de las principales causas de la disfunción endotelial en la obesidad. El tejido adiposo inflamado, unido a la hipoxia, secreta grandes cantidades de ROS y de adipocinas que deterioran las vías de señalización del NO (Virdis *et al.*, 2011). Además, en la obesidad también se produce una producción y actividad anormal de la endotelina-1, lo que sería propio de la disfunción endotelial asociada a este desorden (Nacci *et al.*, 2004). En relación a esto encontramos estudios en los que se han empleado modelos animales de obesidad obtenidos a través de dietas con alto contenido en grasas que han demostrado la existencia de una correlación entre la cantidad de tejido adiposo visceral y la vasodilatación inducida por el flujo sanguíneo (Schjørring *et al.*, 2012), siendo ésta menor cuanto mayor tejido adiposo visceral presenta el individuo. Además se ha visto una disminución de la perfusión en respuesta al ejercicio en individuos con obesidad (Karpoff *et al.*, 2014).

Centrándonos en los canales de potasio activados por calcio, la obesidad afecta a estos canales en diferente medida según su tipo. En primer lugar, con respecto a los canales de potasio activados por calcio de baja y media conductancia, se ha visto que los canales  $K_{Ca}$  3.1 y 2.3 parecen ser menos sensibles a la producción de ROS inducida por la obesidad y la relajación tipo EDH parece mantener su actividad en fases tempranas de la enfermedad (Wölflé & De Wit, 2005). Sin embargo, a medida que la enfermedad avanza, se puede producir el aumento de las ROS y/o la aparición de ROS de diferente naturaleza, lo que produciría, ahora sí, la inhibición de los canales  $K_{Ca}$  3.1 y 2.3 viéndose afectada la vasodilatación tipo EDH (Ellis *et al.*, 2008).

En segundo lugar, estudiando los canales  $BK_{Ca}$ , los resultados obtenidos en diversos estudios evidencian que los mecanismos subyacentes de la inhibición de  $BK_{Ca}$  en la obesidad no están claros, debido a que hay estudios en los que la contribución de los  $BK_{Ca}$  al tono vascular y la vasodilatación dependiente de endotelio se ha visto disminuida en algunos lechos vasculares (Climent *et al.*, 2014) y otros estudios resultan contradictorios, como el realizado por Feher y

colaboradores en 2010, en el que se indica un incremento en la contribución del canal  $BK_{Ca}$  a la vasodilatación dependiente de endotelio en las arterias coronarias. Se ha descrito en modelos animales de obesidad así como en diabetes e hipertensión, que una disminución de la sensibilidad del canal al voltaje y al ión calcio como consecuencia de la regulación a la baja en la subunidad  $\beta 1$  en la obesidad puede ser la responsable de la pérdida de actividad de  $BK_{Ca}$ . Además, el incremento de la producción de las ROS en la obesidad puede representar también un mecanismo subyacente para la disminución de la función del canal  $BK_{Ca}$  descrito en algunos lechos vasculares. Por otra parte, la adiponectina y los estrógenos son conocidos por activar los canales  $BK_{Ca}$  en condiciones fisiológicas, por lo que, los niveles disminuidos de ambas sustancias en la obesidad podrían explicar el descenso en la activación de  $BK_{Ca}$ .

## 5.2. Diabetes

La diabetes es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no es capaz de generar insulina o el cuerpo no puede hacer un uso adecuado de la insulina que produce. Dentro de la diabetes mellitus encontramos dos tipos diferenciados. La diabetes tipo 1 se caracteriza por desarrollarse generalmente en la infancia y se debe a un ataque del sistema inmunitario a las células  $\beta$  del páncreas encargadas de secretar la insulina, por lo que éstos individuos no son capaces de producir dicha hormona. En cambio, la diabetes de tipo 2 aparece a lo largo de la vida del individuo y se caracteriza por una resistencia a la insulina y una deficiencia relativa de esta hormona, aunque esto va a depender del momento en el que se diagnostique la enfermedad. Mientras que los diabéticos tipo 1 necesitan la administración de insulina para poder realizar el aprovechamiento de la glucosa, los diabéticos de tipo 2 pueden no necesitar dicha administración, siendo suficiente el empleo de antidiabéticos orales.

La resistencia a la insulina es una disminución de las acciones metabólicas de la insulina y una reducción del aprovechamiento de la glucosa por diferentes tejidos y es característica de los diabéticos de tipo 2 y se encuentra muy relacionada con la obesidad. Esto se debe a que la obesidad visceral es una de las principales causas de resistencia a la insulina, y la disfunción endotelial en los individuos obesos y en los modelos animales de obesidad está influenciada por el estado de la resistencia a la insulina, independientemente de la disglucemia (Perticone *et al.*, 2001), y mediada por una liberación disminuida de NO estimulada por la insulina (Steinberg *et al.*, 1996).

En cuanto a la relación de la patología con los canales  $K_{Ca}$ , la diabetes está caracterizada por el aumento del estrés oxidativo, lo que produce un aumento de las ROS en la pared vascular y,

debido a ello, un descenso en la biodisponibilidad de NO y un aumento en la activación de los canales BK<sub>Ca</sub> (Sobey, 2001).

### 5.3. Hipertensión

La hipertensión es un trastorno en el que se produce una elevación de la presión arterial por encima de 140 mm Hg para la presión sistólica y 90 mm Hg para la presión diastólica. Es un trastorno silencioso, ya que la mayoría de los pacientes que la padecen no presentan síntomas, pero puede dar lugar a eventos cardiovasculares y problemas renales, así como puede verse agravada por otros factores que aumenten la probabilidad de sufrir dichos eventos.

La hipertensión, per se, no produce una depresión consistente de la respuesta vasodilatadora tipo EDH (Félétou, 2009). Esta patología induce cambios secundarios en las funciones de los canales iónicos del endotelio en modelos murinos de hipertensión. Las fuerzas hemodinámicas alteradas de la hipertensión incrementan la densidad de los canales de potasio endoteliales, de manera que produce un aumento de la hiperpolarización de la membrana celular (Hoyer *et al.*, 1996). La respuesta frente al estrés mecánico puede incrementar la producción de mediadores vasodilatadores, lo que representa un mecanismo adaptativo importante para la protección de la pared de los vasos en la hipertensión, así como el incremento de la actividad de los canales BK<sub>Ca</sub> en las células del MLV puede ser un mecanismo compensador frente al incremento del tono vascular en la hipertensión, ya que estos cambios en la función de los canales de potasio vuelven a la normalidad si la hipertensión es revertida a través del tratamiento (Ohya *et al.*, 2000).. Existen evidencias acerca del funcionamiento anormal de los cuatro principales tipos de canales de potasio cuando un paciente sufre hipertensión. Los canales de larga conductancia (BK<sub>Ca</sub>) juegan un papel muy importante en esta patología, ya que los inhibidores farmacológicos de estos canales producen un aumento de la despolarización y de la contracción en las arterias de animales hipertensos. Esto se produce de una manera similar en vasos de diversas regiones anatómicas que incluye la aorta, la arteria carótida y los lechos mesentérico, femoral y cerebral. Por otra parte, el aumento de la función de los canales BK<sub>Ca</sub> también puede ser debido a un aumento de la presión arterial ya que estos canales generan un mecanismo de retroalimentación negativa que ayuda a restringir el incremento de la presión arterial y del tono vascular, como un mecanismo que actúa para limitar la vasoconstricción inducida por la presión y para preservar el flujo sanguíneo local (Sobey, 2001).

#### 5.4. Hipercolesterolemia y arterioesclerosis

La hipercolesterolemia se caracteriza por un aumento del colesterol en sangre por encima de los niveles que se consideran normales y la arterioesclerosis supone la formación de placa en las arterias. La disfunción vascular se produce en la hipercolesterolemia y en la arterioesclerosis. Esta enfermedad está relacionada con la disfunción endotelial y con una acción disminuida del NO derivado de endotelio, por lo que las arterias pueden exhibir un incremento del tono vascular bajo condiciones basales.

Con respecto a los canales de potasio, los canales BK<sub>Ca</sub> también podrían jugar un papel importante en el desarrollo de arterioesclerosis, ya que hay estudios en los que se ha visto una implicación de estos canales en las respuestas vasodilatadoras en la arteria carótida de conejos con niveles elevados de colesterol (Najibi *et al.*, 1994). En este caso, vieron que la magnitud de la relajación dependiente de endotelio permanecía inalterada, pero sólo las relajaciones de las arterias de los animales hipercolesterolémicos fueron sensibles a la caribdotoxina, bloqueante de los canales BK<sub>Ca</sub>, concluyendo, por tanto, que se producía el aumento de un componente EDHF compensador durante la disminución de la producción de NO que se produce en la hipercolesterolemia. Estudios sucesivos realizados por estos investigadores revelaron que el mecanismo de la respuesta vasorrelajante al NO exógeno aparece como sensible a la caribdotoxina a pesar de un fallo en la producción de GMP cíclico tras la alimentación con colesterol, sugiriendo que el papel funcional de los canales BK<sub>Ca</sub> en el músculo vascular está incrementado en la hipercolesterolemia. Esto se explica debido a que hay un bajo nivel de actividad de los canales BK<sub>Ca</sub>, por lo tanto, una mayor disponibilidad de los mismos para su apertura bajo condiciones en las que hay una actividad disminuida del NO derivado de endotelio.

La actividad de los canales BK<sub>Ca</sub> es significativamente mayor en las células del músculo liso de las placas de aterosclerosis coronaria humanas que en las células del músculo liso, lo que sugiere que los canales de potasio BK<sub>Ca</sub> juegan un papel deletéreo en el desarrollo de la aterosclerosis (Sobey, 2000).

#### 5.5. Tratamiento

Los canales de potasio activados por calcio, como hemos visto anteriormente, están implicados en diferentes patologías cardiovasculares. Debido a esto, podrían ser dianas en el tratamiento de dichas enfermedades, lo que nos permitiría el desarrollo de diferentes compuestos con utilidad terapéutica.

En primer lugar comenzaremos con los **canales de media y baja conductancia.  $K_{Ca3.1}$  y  $K_{Ca2.3}$**  que están disponibles como dianas terapéuticas para fármacos frente a la hipertensión. Estos fármacos podrían ser una alternativa frente a los antagonistas de los canales de calcio y donadores de NO que actúan directamente en el músculo liso (Wulf & Köhler, 2013). Además, debido al importante papel de los canales  $K_{Ca2/3}$  en la vasodilatación tipo EDH, el desarrollo de los activadores de este tipo de canales podría ser interesante para el tratamiento de la disfunción endotelial en obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares (Stapleton *et al.*, 2008). Hay que tener en cuenta que estos canales se encuentran ampliamente distribuidos en el organismo, ya que, además de en el sistema cardiovascular, también se expresan en el sistema nervioso central, en las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra o en las células de Purkinje del cerebelo y están implicadas en el desarrollo de enfermedades neuronales así, como también en procesos de proliferación y migración celular. Por esto, es importante que los nuevos activadores/moduladores de los  $K_{Ca2/3}$  sean específicos de tejido para evitar los efectos adversos que pudieran tener sobre otros tejidos (Wulf & Köhler, 2013).

Como hemos dicho anteriormente, resulta interesante el empleo de activadores de estos canales y dentro de estos compuestos encontramos: **EBIO, NS309, SKA-31**. Son activadores de los canales  $K_{Ca2/3}$ , por lo que no son selectivos. En los estudios in vivo en ratones se ha empleado el SKA-31 (Sankaranarayanan *et al.*, 2008), en cambio, NS309 no puede ser empleado bajo estas condiciones porque tiene una semivida corta (Strobaek *et al.*, 2004). Se cree que el SKA-31 produce la apertura del canal  $K_{Ca3.1}$  preferentemente en células de endotelio murinas y potencia las respuestas vasodilatadoras inducidas por acetilcolina en la arteria carótida de ratones. Estos efectos están ausentes en ratones que carecían de este canal, sugiriendo la posible selectividad del compuesto por el canal  $K_{Ca3.1}$  (Sankaranarayanan *et al.*, 2008). El efecto hipotensor de este compuesto ha sido documentado en ratones con hipertensión inducida por angiotensina II (Sankaranarayanan *et al.*, 2008) o en ratones transgénicos que expresan angiotensina y renina humanas (Waeckel *et al.*, 2012). Además se ha visto que el SKA-31 es activo en grandes mamíferos con una frecuencia cardíaca y presión sanguínea similar a los humanos, como son perros (Damkjaer *et al.*, 2012) y, por lo tanto, podría ser empleado en el tratamiento de la disfunción endotelial y otras patologías cardiovasculares en humanos.

Su empleo en terapéutica se encuentra en desarrollo debido a que han surgido diversas discrepancias en su uso que deben ser corregidas en el futuro. Atendiendo a estas discrepancias, en primer lugar no se conoce si el estímulo continuo de los canales  $K_{Ca2/3}$  podría acabar produciendo una desensibilización y una modulación “feed-back” de la sensibilidad del  $Ca^{2+}$  y

de la actividad del canal y/o una reducción de la expresión del canal. Por otra parte, puede aparecer sedación y un posible desacoplamiento del aprendizaje y la memoria debido a la activación de los canales  $K_{Ca2.3}$  neuronales. Este problema puede ser evitado mediante el desarrollo de activadores selectivos  $K_{Ca3.1}$  o activadores mixtos  $K_{Ca3.1/2.3}$  que no penetren la barrera hematoencefálica, de manera que no afecten a los canales situados en el sistema nervioso central. Otro inconveniente sería que los activadores de  $K_{Ca2.3}$  pueden inducir efectos adversos cardiacos provocando el bloqueo de la transmisión aurículo-ventricular o disminuyendo la frecuencia cardiaca a través de la prolongación de los potenciales de acción auriculares y/o ventriculares (Wulf & Köhler, 2013).

Parece que los activadores de los canales  $K_{Ca3.1/KCa2.3}$  producen efectos específicos de la especie animal empleada en el estudio que pueden ser contradictorios y, probablemente estos datos opuestos estén relacionados con las diferencias en los ritmos cardiacos de ratones y perros y los diferentes mecanismos reguladores del sistema cardiovascular en estas especies. En parte, en ratones sin  $K_{Ca3.1}$  se ha visto que producen bradicardia (Sankaranarayanan *et al.*, 2008) y, por el contrario, en perros pueden producir taquicardia refleja (Damkjaer *et al.*, 2012). Por otra parte, la función vasodilatadora del endotelio puede estar comprometida en pacientes con hipertensión esencial, la obesidad o la diabetes y, presumiblemente, en desórdenes neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer, los canales endoteliales pueden no estar suficientemente disponibles para actuar como dianas debido a los cambios que producen las diferentes enfermedades o su activación no sea suficientemente efectiva. Por último, es posible que los activadores  $K_{Ca3.1}$  puedan estimular algunas funciones de las células del sistema inmune como la migración, proliferación, la producción de citoquinas o ROS y, por ello, exacerbar la inflamación (Wulf & Köhler, 2013), de ahí que su bloqueo mejore la reestenosis, ya que este canal se encuentra involucrado en la proliferación del músculo liso vascular (Köhler *et al.*, 2003).

Los activadores de  $K_{Ca}$ , especialmente aquellos que son selectivos de  $K_{Ca3.1}$  o mixtos  $K_{Ca3.1/2.3}$  que no penetran en el cerebro, pueden tener potencial terapéutico para aplicaciones a largo plazo como la hipertensión intraquirúrgica, vasoespasmo agudo o aplicación local tras la implantación de un stent. Una aplicación interesante que podrían tener estos compuestos sería la preservación de la función endotelial en grandes órganos vasculares como corazones o riñones o en injertos de vasos durante el almacenamiento y el trasplante. Para este uso, los activadores  $K_{Ca3.1}$  y  $K_{Ca2.3}$  podrían ser incluidos en la solución cardioplégica. Los activadores de  $K_{Ca3.1}$  pueden ser más útiles para la terapia de combinación en situaciones donde existan



antihipertensivos que no son suficientemente efectivos o cuando es necesario aumentar el flujo sanguíneo en la microcirculación, ya que la contribución de la respuesta tipo EDH a la vasodilatación es mayor cuanto menor es el diámetro de los vasos sanguíneos, y la microcirculación se ve más afectada que los vasos de conductancia por el daño que producen las diferentes patologías (Wulf & Köhler, 2013).

En segundo lugar, los **canales  $BK_{Ca}$**  también tendrían utilidad terapéutica ya que se encuentran aumentados en la diabetes como un mecanismo de defensa, en la hipertensión y en la hipercolesterolemia. Los inhibidores de estos canales serían útiles para el tratamiento del estado hipotensor relacionado con el shock, pero centrándonos en el tema tratado, serían más útiles los activadores de estos canales, ya que serían una buena opción para el tratamiento de la hipertensión. Los compuestos sintéticos **NS11021** y **NS1619** abren los canales  $BK_{Ca}$  pero su utilidad es limitada debido a su escasa potencia e insuficiente selectividad (Gribkoff *et al.*, 2001; Nardi & Olesen, 2008). Además se encuentra en estudio **BMS-204352**, una sustancia que produce la apertura del canal  $BK_{Ca}$  y su estudio está avanzado para su uso en la neutroprotección en pacientes infartados aunque ha fallado en mostrar una mayor eficacia en pacientes comparado con el placebo en estudios en fase III. Este compuesto es un activador de los canales  $BK_{Ca}$  neuronales, de manera que disminuye la excitabilidad neuronal que se produce en el infarto cerebral y, de esta forma, protege al cerebro de la isquemia y del daño irreversible (Jensen, 2002).

## 6. CONCLUSIONES

Los canales de potasio activados por calcio son importantes mediadores de la vasodilatación dependiente de endotelio, así como reguladores del tono basal a través de diferentes mecanismos. Debido a esto se encuentran implicados en las patologías vistas anteriormente, aumentando su presencia en algunos casos a modo de mecanismo de compensación para evitar los efectos nocivos de la enfermedad. Como consecuencia, los canales  $K_{Ca}$  serían de gran utilidad como dianas para el desarrollo de compuestos que activasen su función, ya que en las patologías en las que se produce un descenso de la vasodilatación mediada por NO y prostaciclina, tendrían una especial importancia, incrementando la respuesta EDH y, de este modo, pudiendo compensar el deterioro de las vías de síntesis de NO y prostaciclina, manteniendo la vasodilatación.

Actualmente, estas terapias se encuentran en desarrollo debido a la gran cantidad de efectos adversos que presentan al encontrarse estos canales ampliamente distribuidos en el organismo. Sin embargo, una vez superados dichos inconvenientes, podrían suponer una gran alternativa para el tratamiento de los desórdenes cardiovasculares que generan estas enfermedades, evitando de esta manera, la progresión de las mismas, minimizando sus efectos y evitando complicaciones.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Baker EH. Ion channels and the control of blood pressure. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2000;49(3):185-198.

Barrett, K. E. Ganong fisiología médica 26ª Ed. McGraw Hill, España. 2016.

Benham C., Bolton T. Spontaneous transient outward currents in single visceral and vascular smooth muscle cells of the rabbit. *The Journal of Physiology*. 1986; 381

Berridge, M. J., Smooth muscle cell calcium activation mechanisms. *The Journal of Physiology*, 2008, 586: 5047–5061.

Genetic Deficit of SK3 and IK1 Channels Disrupts the Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor Vasodilator Pathway and Causes Hypertension

Brähler S., Kaistha A., Schmidt V., et al. Genetic Deficit of SK3 and IK1 Channels Disrupts the Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor Vasodilator Pathway and Causes Hypertension. *Circulation*. 2009;119:2323-2332

Bychkov, R., Burnham, M., Richards, G. et al. Characterization of a charybdotoxin-sensitive intermediate conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channel in porcine coronary endothelium: relevance to EDHF. *British Journal of Pharmacology*. 2002; 137: 1346–1354.

Campbell WB, Gauthier KM. Inducible Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor (iEDHF): Role of the 15-Lipoxygenase-EDHF Pathway. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2013;61(3):176-187.

Cheng J., Mao L., Wen J., et al. Different effects of hypertension and age on the function of large conductance calcium- and voltage-activated potassium channels in human mesentery artery smooth muscle cells. *Journal of American Heart Association*, 2016; 5:e003913.

Climent B, Simonsen U, Rivera L. Effects of obesity on vascular potassium channels. *Current Vascular Pharmacology*. 2014, 12(3):438-52.

Damkjaer, M., Nielsen, G., Bodendiek, S., et al. Pharmacological activation of  $\text{KCa}_{3.1}/\text{KCa}_{2.3}$  channels produces endothelial hyperpolarization and lowers blood pressure in conscious dogs. *British Journal of Pharmacology*. 2012; 165: 223–234.

Feher A, Rutkai I, Beleznaï T, et al. Caveolin-1 limits the contribution of  $\text{BK}(\text{Ca})$  channel to EDHF-mediated arteriolar dilation: implications in diet-induced obesity. *Cardiovascular Research*. 2010;87(4):732-739.

Félétou M. The Endothelium: Part 1: Multiple Functions of the Endothelial Cells—Focus on Endothelium-Derived Vasoactive Mediators. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences; 2011.

Félétou M. Calcium-activated potassium channels and endothelial dysfunction: therapeutic options *British Journal of Pharmacology*. 2009;156(4):545-562.

Félétou M., Vanhoutte P. EDHF: an update. *Clinical Science*. 2009; 117(4):139-155

Grgic, I., Kaistha, B. P., Hoyer, J., & Köhler, R. Endothelial  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels in normal and impaired EDHF-dilator responses – relevance to cardiovascular pathologies and drug discovery. *British Journal of Pharmacology*, 2009, 157(4), 509–526.

Gribkoff V., Starrett J., Dworetzky S. et al. Targeting acute ischemic stroke with a calcium-sensitive opener of maxi-K potassium channels. *Nature Medicine*. 2001; 7, 471 - 477

Gutman G. A., Chandy K. G., Grissmer E, Lazdunski M., Mckinnon D., Pardo L. A., Robertson G. A., Rudy B., Sanguinetti M. E., Stuhmer W. and Wang X. Nomenclature and molecular relationship of voltage-gated potassium channels. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2005; 57:473-508.

Hall J.E. Guyton & Hall: Tratado de fisiología médica, 13ª Ed. Elsevier, España. 2016.

Hecker M. Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor - Fact or Fiction? *Physiology*, 2000, 15 (1) 1-5.

Jensen, B. S. BMS-204352: A Potassium Channel Opener Developed for the Treatment of Stroke. *CNS Drug Reviews*, 2002; 8: 353–360.

Karpoff, L., Vinet, A., Schuster, I., Oudot, C., Goret, L., Dauzat, M., Obert, P. and Perez-Martin, A. Abnormal vascular reactivity at rest and exercise in obese boys. *European Journal of Clinical Investigation*. 2009; 39: 94–102.

Koeppen B.M. Berne y levy: Fisiología, 6ª Ed. Elsevier, España. 2009

Köhler R, Kaistha BP, Wulff H. Vascular  $\text{K}_{\text{Ca}}$ -channels as therapeutic targets in hypertension and restenosis disease. *Expert opinion on therapeutic targets*. 2010;14(2):143-155.

Large, R. J., Kshatri, A., Webb, T. I., Roy, S., Akande, A., Bradley, E., Sergeant, G. P., Thornbury, K. D., McHale, N. G. and Hollywood, M. A. Effects of the novel BK ( $\text{K}_{\text{Ca}1.1}$ ) channel opener GoSlo-SR-5-130 are dependent on the presence of  $\text{BK}_{\beta}$  subunits. *British Journal of Pharmacology*, 2015; 172: 2544–2556.

Nacci C., Leo V., De Benedictis L., et al. Elevated Endothelin-1 (ET-1) Levels May Contribute to Hypoadiponectinemia in Childhood Obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98 (4): E683-E693.

Najibi S., Cowan C., Palacino J., Cohen R.. Enhanced role of potassium channels in relaxations to acetylcholine in hypercholesterolemic rabbit carotid artery. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 1994; 266 (5): H2061-H2067

Neylon C., Lang R., Fu Y., et al. Molecular Cloning and Characterization of the Intermediate-Conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -Activated  $\text{K}^{+}$  Channel in Vascular Smooth Muscle: Relationship Between  $\text{K}_{\text{Ca}}$  Channel Diversity and Smooth Muscle Cell Function. *Circulation research*. 1999; 85: e33-e43.

Ohya S., Kimura S., Kitsukawa M. et al. SK4 Encodes Intermediate Conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -Activated  $\text{K}^{+}$  Channels in Mouse Urinary Bladder Smooth Muscle Cells. *The Japanese Journal of Pharmacology*. 2000; 84 (1): 97-100.

Perticone F., Ceravolo R., Candigliota M., Ventura G., Iacopino S., Sinopoli F., Mattioli P. Obesity and Body Fat Distribution Induce Endothelial Dysfunction by Oxidative Stress. *Diabetes*. 2001, 50 (1) 159-165

Prieto D, Contreras C, Sánchez A. Endothelial dysfunction, obesity and insulin resistance. *Current Vascular Pharmacology*. 2014, May; 12(3):412-26.

Rensen SSM, Doevendans PAFM, van Eys GJJM. Regulation and characteristics of vascular smooth muscle cell phenotypic diversity. *Netherlands Heart Journal*. 2007;15(3):100-108.

Sadow, S. Factors, fiction and endothelium-derived hyperpolarizing factor. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2004; 31: 563–570.

Sankaranarayanan A, Raman G, Busch C, et al. Naphtho[1,2-*d*]thiazol-2-ylamine (SKA-31), a New Activator of  $\text{KCa2}$  and  $\text{KCa3.1}$  Potassium Channels, Potentiates the Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor Response and Lowers Blood Pressure. *Molecular Pharmacology*. 2009;75(2):281-295.

Schächinger V., Britten M., Zeiher A.. Prognostic Impact of Coronary Vasodilator Dysfunction on Adverse Long-Term Outcome of Coronary Heart Disease. *Circulation*. 2000; 101: 1899-906

Schjørring, Olav et al. Flow-Evoked Vasodilation Is Blunted in Penile Arteries from Zucker Diabetic Fatty Rats. *The Journal of Sexual Medicine*. 2012; 9: 1789 – 1800

Sheng J., Braun A. Small- and intermediate-conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels directly control agonist-evoked nitric oxide synthesis in human vascular endothelial cells. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*. 2007; 293 (1)C458-C467

Shi, L., Zhang, H., Chen, Y., Liu, Y., Lu, N., Zhao, T. and Zhang, L. Chronic exercise normalizes changes in  $\text{Ca}_v1.2$  and  $\text{KCa1.1}$  channels in mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats. *British Journal of Pharmacology*. 2015; 172: 1846–1858.

Sobey C. G. Potassium channel function in vascular disease. *Journal of the American Heart Association*, 2001; 21:28-38.

Stankevičius, E., Lopez-Valverde, V., Rivera, L., Hughes, A. D., Mulvany, M. J. and Simonsen, U. Combination of  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channel blockers inhibits acetylcholine-evoked nitric oxide release in rat superior mesenteric artery. *British Journal of Pharmacology*, 2006; 149: 560–572.

Stapleton PA, James ME, Goodwill AG, Frisbee JC. Obesity and vascular dysfunction. *Pathophysiology : the official journal of the International Society for Pathophysiology*. 2008;15(2):79-89.

Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*. 1996;97(11):2601-2610.

Strøbæk D., Teuber L., D. Jørgensen T, et al. Activation of human IK and SK  $\text{Ca}$ -activated K channels by NS309 (6,7-dichloro-1-indole-2,3-dione 3-oxime), *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2004; 1665: 1-5.

Valle-Rodríguez A del, López-Barneo J, Ureña J.  $\text{Ca}^{2+}$  channel-sarcoplasmic reticulum coupling: a mechanism of arterial myocyte contraction without  $\text{Ca}^{2+}$  influx. *The EMBO Journal*. 2003; 22(17):4337-4345.

Vanhoutte, P. M., Shimokawa, H., Tang, E. H. C. and Feletou, M., Endothelial dysfunction and vascular disease. *Acta Physiologica*. 2009;196: 193–222.

Virdis A., Taddei S. How to evaluate microvascular organ damage in hypertension: assessment of endothelial function. *High Blood Press Cardiovasc. Prev*. 2011; 18 (4): 163-7

Waeckel, L., Bertin, F., Clavreul, N. et al. Preserved regulation of renal perfusion pressure by small and intermediate conductance  $\text{K}_{\text{Ca}}$  channels in hypertensive mice with or without renal failure *Pflugers Arch - Eur J Physiol*. 2015;467: 817.

Weston, A., Porter, E., Harno, E. and Edwards, G. Impairment of endothelial  $\text{SK}_{\text{Ca}}$  channels and of downstream hyperpolarizing pathways in mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats. *British Journal of Pharmacology*, 2010; 160: 836–843.

Wulff H, Köhler R. Endothelial Small- and Intermediate-Conductance  $\text{KCa}$  Channels: An Update on Their Pharmacology and Usefulness as Cardiovascular Targets. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2013;61(2):102-112.

ZhuGe R, Fogarty KE, Tuft RA, Walsh JV. Spontaneous Transient Outward Currents Arise from Microdomains Where BK Channels Are Exposed to a Mean  $\text{Ca}^{2+}$  Concentration on the Order of 10  $\mu\text{M}$  during a  $\text{Ca}^{2+}$  Spark. *The Journal of General Physiology*. 2002;120(1):15-27.